

Efek Fraksi *n*-heksana Kulit *Hylocereus polyrhizus* Terhadap Aktivitas Katalase Tikus Stres Oksidatif

Eka Kartika Untari¹, Sri Wahdaningsih¹, Agustia Damayanti¹

¹Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran, Universitas Tanjungpura, Pontianak

Email: agustia.yaya@yahoo.com

Abstrak

Produksi radikal bebas berlebih dapat menyebabkan kerusakan oksidatif dan menimbulkan penyakit degeneratif. Enzim katalase yang merupakan salah satu enzim antioksidan endogen intrasel dapat mengalami penurunan aktivitas akibat kondisi stres oksidatif. Kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) berpotensi sebagai antioksidan eksogen yang dapat membantu kerja enzim antioksidan untuk mengatasi radikal bebas. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui pengaruh pemberian fraksi *n*-heksana kulit buah *H. polyrhizus* dan dosis yang dapat meningkatkan aktivitas katalase. Simplisia kulit buah diisi dimaserasi dengan kloroform dan difraksinasi dengan *n*-heksana. Perlakuan stres dilakukan dengan puasa selama 5 hari dan berenang selama 10 menit/hari. Pengukuran aktivitas enzim katalase menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Tikus dibagi menjadi 6 kelompok yaitu kontrol normal, kontrol negatif, perlakuan dosis I (10 mg/200gBB), II (40 mg/200gBB), kontrol positif kuersetin (4 mg/200gBB) dan vitamin E (17,64 mg/kgBB). Hasil analisis data aktivitas enzim katalase pada kelompok kontrol normal 29,4 Unit/ml, kontrol negatif 7,8 Unit/ml, dosis I 14,42 Unit/ml, dosis II 14,79 Unit/ml, kuersetin 28,18 Unit/ml, dan vitamin E 71,29 Unit/ml. Hasil penelitian menunjukkan bahwa, fraksi *n*-heksana *H. polyrhizus* berpotensi sebagai antioksidan karena dapat meningkatkan aktivitas enzim katalase tikus yang mengalami stres oksidatif.

Abstract

Production of excess free radicals cause oxidative damage and degenerative diseases. Catalase enzyme is one of the endogenous intracellular antioxidant that can be reduced by oxidative stress conditions. The peel of red dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*) as a potent exogenous antioxidants could support the internal enzyme activity to prevent free radicals. The aim of this research was to determine the effect of *n*-hexane fraction of *H. polyrhizus*'s peel and the dose that could increase activity of catalase. The peel was maserated with chloroform, then fractionated by *n*-hexane. Stress condition was achieved by five days fasting and swimming for 10 mins/day to test animals. UV-Vis spectrophotometer was used to measure the activity of catalase. The rats were divided into 6 groups: normal control, negative control, dose I (10 mg/200gBB), dose II (40 mg/200gBB), positive control quercetin as (4 mg/200gBB) and vitamin E (17.64 mg/kg). The activity of catalase enzyme in the normal control is 29.4 units/ml; negative control is 7.08 Units/ml; dose I is 14.42 Units/ml; dose II is 14.79 units/ml' quercetin is 28.18 Units/ml; and vitamin E is 71.29 units/ml. Our conclusion is the activity of the catalase enzyme rat under oxidative stress can be increased by the *n*-hexane fraction of *H. polyrhizus*.

Keywords : *antioxidant, hylocereus polyrhizus, catalase*

PENDAHULUAN

Masalah kesehatan saat ini mulai bergeser dari penyakit-penyakit infeksi ke penyakit-penyakit degeneratif. Kelompok usia yang mengalami penyakit degeneratif juga mengalami pergeseran yaitu dari kelompok usia tua ke kelompok usia muda. Produksi radikal bebas melebihi dari kemampuan antioksidan intrasel untuk menetralkannya sangat potensial menyebabkan kerusakan sel. Sering kali kerusakan ini disebut sebagai kerusakan oksidatif (Suarsana *et al.*, 2013). Kerusakan oksidatif yang diakibatkan oleh radikal bebas berimplikasi pada berbagai kondisi patologis, yaitu kerusakan sel, jaringan, dan organ baik pada manusia maupun hewan. Kerusakan ini dapat berakhir pada kematian sel sehingga terjadi percepatan timbulnya berbagai penyakit degeneratif (Valko *et al.*, 2007).

Sehubungan dengan potensi toksisitas senyawa radikal bebas, tubuh memiliki mekanisme sistem pertahanan alami berupa enzim antioksidan endogen yaitu superoksida dismutase (SOD), glutathion peroksidase (GPx), dan katalase yang berfungsi menetralkan dan mempercepat degradasi senyawa radikal bebas untuk mencegah kerusakan komponen makromolekul sel (Valko *et al.*, 2007; Anatriera, 2009). Enzim-enzim antioksidan intrasel dapat mengalami penurunan aktivitas akibat kondisi stres oksidatif (Suarsana *et al.*, 2013). Penelitian yang dilakukan oleh Zainuri 2012, menyatakan bahwa stres oksidatif yang diakibatkan hipoksia dapat menyebabkan

terjadinya penurunan aktivitas enzim katalase (Zainuri *et al.*, 2012). Katalase adalah enzim yang mengandung heme yang mengkatalis dismutasi hidrogen peroksida menjadi air dan oksigen. Enzim ini ditemukan pada semua jenis eukariot aerob, yang penting untuk memusnahkan H_2O_2 yang terbentuk dalam peroksisom melalui reaksi oksidasi, seperti oksidasi asam-asam lemak, siklus glikosilat (dalam fotorespirasi), dan katabolisme purin (Winarsi, 2007).

Tanaman buah naga atau *dragon fruit* merupakan salah satu tanaman buah tropis yang termasuk di dalam suku *Cactacea* dan mulai banyak dikembangkan di Indonesia. Buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) berpotensi sebagai antibakteri, antioksidan, antiproliferasi, dan hipokolesterolemik (Normahani *et al.*, 2012; Wu *et al.*, 2005; Raihanah *et al.*, 2012). *H. polyrhizus* mengandung antioksidan yang bersifat lipofilik seperti β -kriptoxantin (0,03 $\mu\text{g/g}$), β -karoten (0,04 $\mu\text{g/g}$) dan α -tokoferol (2,84 $\mu\text{g/g}$) dan α -tokotrienol (0,02 $\mu\text{g/g}$)¹⁶. Kulit *H. polyrhizus* mengandung β -karoten dan β lain yang memiliki aktivitas antioksidan (Wiset *et al.*, 2012). Penelitian secara *in vitro* kulit *H. polyrhizus* yang dilakukan oleh Budilaksono 2013 menyatakan bahwa fraksi *n*-heksana kulit buah naga yang mengandung alkaloid, flavonoid, dan terpenoid memiliki aktivitas antioksidan yang dapat menangkal radikal bebas (Budilaksono, 2013). Belum ditemukan penelitian secara *in vivo* yang melaporkan bahwa kulit *H. polyrhizus* dapat meningkatkan kadar enzim antioksidan.

Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian mengenai peningkatan kadar enzim katalase dan pada tikus yang mengalami stres oksidatif setelah pemberian fraksi *n*-heksana kulit *H. polyrhizus*.

METODE

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah neraca analitik (Precisa XB 4200 C®, Precisa XT 220 A®), seperangkat alat kaca, rak tabung reaksi, pipet tetes, pipet ukur (Pyrex®), *ball filler*, *hot plate* (Schott Instrument®), oven (memmert®), *water-bath*, desikator, evaporator (Heidolph®), blender, corong Buchner, pompa vakum, cawan penguap, batang pengaduk, sonde (sprit injeksi p.o), minor set, mikro pipet, *micro tube*, blue tip, mikro sentrifuge, dan spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu®).

Bahan penelitian yang digunakan adalah kulit buah *H. polyrhizus*, kuersetin dan vitamin E. Bahan kimia yang digunakan adalah larutan kloroform (Merck), larutan *n*-heksana (Merck), larutan FeCl₃ 1%, larutan NaCl 10%, pereaksi Lieberman-Burchard, pereaksi Dragendorff, pereaksi Mayer, pereaksi Wagner, serbuk Mg, larutan gelatin 1%, akuades, *phosphat buffer saline* (PBS), KCl (Merck), KH₂PO₄ (Merck), K₂HPO₄ (Merck), dan H₂O₂ (Merck).

Cara Kerja

Buah *H. polyrhizus* didapat dari Perkebunan Petani Mekar Sari Kecamatan Segedong,

Kabupaten Pontianak, Provinsi Kalimantan Barat. Kulit tersebut dicuci dengan air mengalir, kemudian dirajang dan disortasi basah. Setelah itu dikeringkan dan diblender hingga menjadi simplisia yang dapat melewati ayakan 40 mesh.

Ekstraksi dan Fraksinasi. Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini adalah maserasi. Simplisia kulit buah *H. polyrhizus* dimaserasi dengan pelarut kloroform dan dilakukan pengadukan 3 kali sehari. Setiap 24 jam dilakukan penyaringan sehingga diperoleh maserat dan ampas, kemudian ampas dilarutkan kembali dengan pelarut kloroform. Proses maserasi dilakukan selama 7 hari. Maserat yang diperoleh selama proses maserasi dikumpulkan dan dipekatkan menggunakan alat *rotary evaporator* pada suhu 40°C hingga pelarut menguap dan didapatkan ekstrak kloroform yang kental. Ekstrak kloroform kemudian difraksinasi cair-cair dengan pelarut *n*-heksana. Fraksinasi dilakukan sebanyak 3 kali dengan menggunakan 150 ml pelarut untuk tiap proses fraksinasi. Pada fraksinasi dengan menggunakan pelarut *n*-heksana, dihasilkan pemisahan berupa dua fase berdasarkan tingkat kepolaran fraksi *n*-heksana dan fraksi sisa. Fraksi *n*-heksana yang terdapat di fase atas dikumpulkan dan dipekatkan menggunakan *waterbath* hingga diperoleh fraksi *n*-heksana kulit buah *H. polyrhizus* yang kental.

Pemeriksaan Karakteristik Fraksi *n*-heksana Kulit Buah *H. polyrhizus*.

Fraksi *n*-heksana kulit buah *H. polyrhizus* distandarisasi dengan pengujian susut pengeringan. Fraksi *n*-heksana ditimbang secara seksama sebanyak 1 g dan dimasukkan ke dalam kurs porselen tertutup yang sebelumnya telah dipanaskan pada suhu penetapan 105°C selama 30 menit dan telah ditara. Sebelum ditimbang ekstrak diratakan dalam kurs porselen, dapat diratakan dengan bantuan pengaduk. Kemudian dimasukkan ke dalam lemari pengering, buka tutupnya dikeringkan beserta tutup botolnya pada suhu 105°C hingga bobot tetap (DepKes RI, 1979).

Skrining Fitokimia. Skrining fitokimia dilakukan untuk menentukan komponen bioaktif yang terdapat pada fraksi *n*-heksana. Skrining fitokimia menggunakan metode uji tabung dan dilakukan pada golongan senyawa alkaloid, tanin, polifenol, terpenoid, steroid, saponin dan flavonoid.

Pengujian Aktivitas Enzim Katalase

Persiapan Hewan Percobaan. Pada penelitian ini telah digunakan tikus jantan galur Wistar usia 2-3 bulan dengan berat badan rata-rata 100-200 g. Hewan diadaptasikan terhadap lingkungan kandang percobaan selama 1 minggu, kemudian dikelompokkan menjadi 6 kelompok perlakuan dan masing-masing kelompok perlakuan terdiri dari 3 ekor tikus. Kelompok 1, yaitu kelompok tikus normal tanpa perlakuan; kelompok 2, positif stres oksidatif (SO); kelompok 3, yaitu perlakuan stres oksidatif dan diberi fraksi *n*-heksana 10 mg/200gBB; kelompok

4, yaitu perlakuan stres oksidatif dan diberi fraksi *n*-heksana 40 mg/200gBB; kelompok 5, yaitu perlakuan stres oksidatif dan diberi kuersetin 4 mg/200gBB; kelompok 6, yaitu perlakuan stres oksidatif dan diberikan vitamin E 17,64 mg/kgBB. Perlakuan stres oksidatif dilakukan dengan cara puasa (tidak diberikan pakan), tapi diberi air minum *ad libitum* serta tikus dibiarkan berenang 10 menit/hari selama 5 hari. Pemberian fraksi metanol, kuersetin dan vitamin E diberikan secara oral menggunakan sonde. Setelah 5 hari masa perlakuan, tikus diterminasi secara *cervical dislocatio* di mana sebelumnya tikus telah dipingsankan dengan kloroform. Tikus dibedah dan diambil organ hati. Organ hati tikus dicuci dengan larutan *phospate buffer saline* (PBS).

Pembuatan Homogenat Hati Tikus.

Hati tikus sebanyak 1,25 g dicacah dalam kondisi dingin dalam 5 ml larutan PBS yang mengandung 11,5 g/L KCl, kemudian disentrifugasi dengan *microcentrifuge* kecepatan 4000 rpm selama 10 menit pada suhu 4°C sehingga diperoleh supernatan jernih (homogenat). Supernatan jernih (homogenat) ini digunakan untuk analisis aktivitas enzim antioksidan meliputi enzim katalase (Singh *et al.*, 2002).

Pengukuran Aktivitas Katalase.

Supernatan jernih hati tikus sebanyak 0,5 ml ditambahkan ke dalam 2,0 ml bufer kalium fosfat 50 mM (pH 7.0) yang mengandung 10 mM H₂O₂. Perubahan absorbansi diukur dengan spektrofotometer UV Vis pada λ 240

nm, dicatat setiap 15 detik selama 1 menit. Aktivitas katalase diukur berdasarkan reduksi hidrogen peroksida dan dihitung dengan menggunakan kemiringan (*slope*) kurva absorbansi larutan sampel (SL) maupun larutan blanko SLb) dengan rumus (Iwai *et al.*, 2002):

Aktivitas Katalase (U/ml) =

$$\frac{(SL - SLb)}{0.0436} \times \frac{2.5}{0.5} \quad (1)$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Maserasi adalah proses pengestraksian simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruangan (kamar). Metode maserasi dipilih karena memiliki kelebihan antara lain sederhana, relatif murah, tidak memerlukan peralatan yang rumit dan dapat menghindari kerusakan komponen senyawa yang tidak tahan panas, metode ini dilakukan tanpa proses pemanasan. Prinsip maserasi yaitu adanya difusi cairan penyari ke dalam sel tumbuhan yang mengandung senyawa aktif. Difusi tersebut mengakibatkan perbedaan tekanan osmosis didalam dan diluar sel. Senyawa aktif kemudian terdesak keluar akibat adanya tekanan osmosis tersebut. Pada penyarian dengan maserasi perlu dilakukan pengadukan (DepKes RI, 1986). Hasil maserasi yang didapatkan berupa ekstrak kulit *H.polyrhizus* seberat 9,48 g dengan nilai rendemen 2,39%.

Ekstrak kloroform kulit *H.polyrhizus* difraksinasi dengan menggunakan pelarut *n*-heksana untuk menarik senyawa non-polar. Ekstraksi cair-cair merupakan metode ekstraksi yang didasarkan pada sifat kelarutan komponen target dan distribusinya dalam dua pelarut yang tidak saling bercampur. Senyawa polar akan terbawa dalam pelarut polar, senyawa semipolar akan terbawa dalam pelarut yang semipolar, dan senyawa nonpolar akan terbawa dalam pelarut nonpolar (Khopkar, 2002). Hasilnya didapatkan fraksi *n*-heksana kulit *H.polyrhizus* sebanyak 9.48 g dan nilai rendemennya adalah 65,61%. Hasil susut pengeringan fraksi *n*-heksana kulit *H.polyrhizus* adalah 20,31%. Nilai ini menunjukkan bahwa fraksi *n*-heksana kulit *H. polyrhizus* tergolong ekstrak kental, karena nilai susut pengeringannya kurang dari 30%.

Skrining fitokimia telah dilakukan terhadap fraksi *n*-heksana kulit *H.polyrhizus*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa fraksi

Tabel 1. Hasil Skrining Fitokimia Fraksi *n*-Heksana Kulit *H.polyrhizus*

Pemeriksaan	Reagen	Hasil
Alkaloid	Mayer	+
	Dragendrof	+
	Wagner	+
Polifenol	FeCl ₃ 1%	-
Flavonoid	Mg, HCl	-
Saponin	Air, HCl	-
Steroid/Terpenoid	Lieberman Burchard	-
Tanin	Gelatin 1%, NaCl	-

n-heksana kulit *H. polyrhizus* menunjukkan hasil positif terhadap pemeriksaan alkaloid dan terpenoid. Sedangkan senyawa fenolik, tanin, flavonoid, saponin, dan steroid menunjukkan hasil negatif. Hasil skrining terdapat pada Tabel 1.

Hewan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih jantan galur wistar. Tikus putih digunakan karena mudah dipelihara, peka terhadap perlakuan yang berhubungan dengan diet, dan sering digunakan pada penelitian (Malole, 1989). Tikus putih jantan juga mempunyai kecepatan metabolisme obat yang lebih cepat dan kondisi biologis tubuh lebih stabil dibanding tikus betina (Sihombing, 2010). Pemilihan galur wistar dikarenakan tikus wistar mempunyai kemampuan metabolik yang relatif cepat sehingga lebih sensitif bila digunakan dalam penelitian yang berhubungan dengan metabolik tubuh. Organ yang digunakan sebagai sampel adalah hati tikus. Pemilihan organ hati untuk pengukuran aktivitas enzim katalase dikarenakan metabolisme lemak terjadi jauh lebih cepat di dalam organ hati dibandingkan dengan organ lainnya. Selain itu permulaan oksidasi asam lemak dalam tubuh banyak terjadi di hati. Hal ini memungkinkan organ hati menjadi tempat yang sangat mudah diserang oleh radikal bebas yang merupakan hasil samping dari reaksi metabolisme lemak (Guyton, 1992).

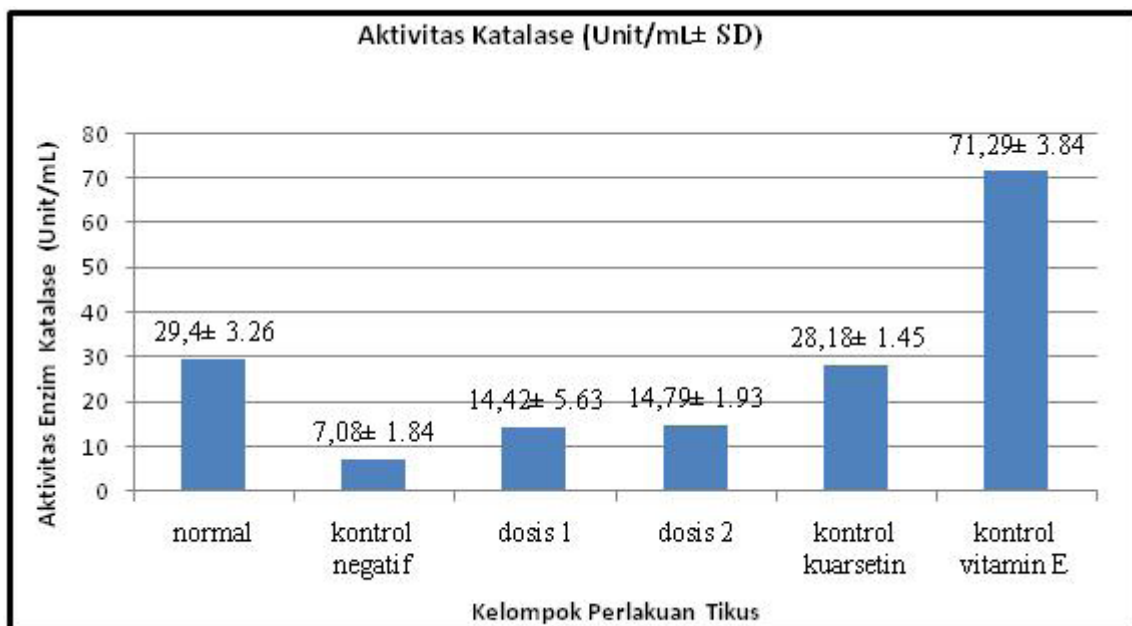
Antioksidan enzimatik yang terdapat di dalam tubuh termasuk salah satunya katalase bertindak sebagai baris pertama pertahanan tubuh terhadap spesies oksigen reaktif. Spesies oksigen reaktif (ROS) adalah istilah kelompok oksidan baik radikal bebas atau molekul yang mampu menghasilkan radikal bebas. Spesies oksigen reaktif diantaranya anion superoksida (O_2^-), hidrogen peroksida (H_2O_2), radikal peroksil (ROO) dan radikal hidroksil reaktif (OH) (Kunwar *et al.*, 2011). Enzim katalase akan mengkatalis dekomposisi salah satu ROS yakni hidrogen peroksida menjadi air dan oksigen sehingga dapat melindungi sel dari kerusakan oksidatif (Mirsa *et al.*, 2009). Reaksi pertama menjelaskan bahwa satu molekul hidrogen peroksida (H_2O_2) mengoksidasi heme yang terdapat dalam katalase yang berada dalam bentuk *resting-state* (Enz (Por- Fe^{III})) menjadi bentuk *oxyferryl*. Satu oksidasi setara dengan penghilangan besi (Fe) dan satu dari cincin porfirin (Por) sehingga menghasilkan senyawa I (Cpd I) yaitu kation porfirin radikal (Por $^+$ - $Fe^{IV}=O$). Selanjutnya molekul hidrogen peroksida dalam reaksi kedua digunakan sebagai reduktor senyawa I untuk regenerasi enzim *resting-state* (Enz(Por- Fe^{III})), air (H_2O) dan oksigen (O_2) (Chelikani *et al.*, 2004).

Reaksinya adalah sebagai berikut :



Terjadi penurunan aktivitas enzim katalase yang dilihat dari terdapat perbedaan signifikan antara kelompok normal dan kontrol negatif ($p < 0.05$). Hal ini menunjukkan perlakuan perenangan selama 10 menit dan puasa makan dapat menyebabkan stres oksidatif. Hasil ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Misra 2009 yang menyatakan bahwa perenangan tikus menyebabkan stres oksidatif dan dapat menurunkan aktivitas enzim katalase secara signifikan (Misra *et al.*, 2009). Stres oksidatif merupakan ketidakseimbangan yang serius antara produksi spesies oksigen reaktif (ROS) dan pertahanan antioksidan. Stres oksidatif dapat menyebabkan cedera jaringan dimana terjadi kerusakan pada semua target molekul, DNA, protein dan lipid (lipid peroksidasi) (Halliwell, 2001). Aktivitas katalase pada tikus dengan berbagai perlakuan disajikan pada diagram Gambar 1.

Selama melakukan aktivitas fisik seperti berenang, konsumsi oksigen oleh tubuh meningkat. Saat proses fosforilasi oksidatif di dalam mitokondria terjadi, oksigen direduksi oleh sistem transport elektron mitokondria untuk membentuk adenosin trifosfat (ATP) dan air. Selama proses fosforilasi oksidatif ini sekitar 2% molekul oksigen dapat berikatan dengan elektron tunggal yang bocor dari karier elektron pada rantai pernafasan, sehingga membentuk radikal superoksida ($O_2^{\cdot-}$). Radikal superoksida yang terbentuk ini akan membentuk hidrogen peroksida (H_2O_2) dan hidroksil reaktif (OH^{\cdot}) dengan cara berinteraksi dengan logam transisi reaktif seperti tembaga dan besi (Orellana *et al.*, 1992). Radikal bebas berlebih inilah yang akan menyebabkan kondisi stress oksidatif karena antioksidan endogen tidak mampu meredam radikal bebas tersebut. Selain



Gambar 1. Diagram Aktivitas Enzim Katalase Tiap kelompok Tikus

perenangan, selama perlakuan tikus juga dipuaskan makan dan hanya diberikan minum saja. Puasa merupakan kondisi yang dapat menyebabkan stres oksidatif. Kebutuhan utama saat lapar adalah senyawa penghasil energi dan salah satunya adalah lemak. Lemak netral dikatabolisme menjadi asam lemak dan gliserol dimana asam lemak merupakan bahan bakar utama dalam penghasil energi. Pada keadaan normal, katabolisme asam lemak terjadi di dalam mitokondria melalui proses yang dikenal sebagai β -oksidasi. Namun, dalam kondisi kelaparan terjadi peningkatan proses β -oksidasi pada peroksisom yang pada kondisi normal merupakan jalur minor proses β -oksidasi (Guyton, 1992). Penelitian yang dilakukan oleh Wresdiyati dan Makita (1995) juga menyatakan bahwa kondisi stres seperti puasa dapat meningkatkan jumlah peroksisom yang berdampak pada peningkatan oksidasi di peroksisom (Wresdiyati *et al.*, 1995). Peningkatan aktivitas β -oksidasi di dalam peroksisom ini menyebabkan jumlah radikal bebas juga meningkat sebagai salah satu hasil samping dari proses metabolisme.

Pemberian fraksi *n*-heksana kulit *H. polyrhizus* dosis 1 10mg/200gBB dan dosis 2 40mg/200gBB dapat meningkatkan aktivitas enzim katalase secara signifikan bila dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif ($p < 0.05$). Aktivitas antioksidan ini diduga karena adanya kandungan metabolit sekunder yaitu alkaloid dan terpenoid di dalam fraksi *n*-heksana kulit *H. polyrhizus*. Penelitian yang dilakukan oleh Shine 2014 menunjukkan bahwa ekstrak dari tanaman

Cyclea peltata yang mengandung alkaloid tetrandrin, fangkinolin, dan koklaurin dapat meningkatkan aktivitas enzim antioksidan seperti katalase, SOD, GSH pada tikus yang diinduksi senyawa CCl_4 (Shine *et al.*, 2014). Alkaloid boldin yang telah diteliti oleh Jang 2000 dapat menghasilkan efek penghambatan kerusakan oksidatif jaringan pada tikus dan mengubah aktivitas enzim antioksidan dengan cara mendekomposisi reaktif oksigen spesies, menghambat produksi oksida nitrat dan dengan mereduksi pembentukan produk peroksidasi (Jang *et al.*, 2000). Logam, seperti tembaga dan besi, yang terdapat dalam sistem biologi akan bereaksi dengan H_2O_2 melalui reaksi Fenton untuk menghasilkan radikal hidroksil. Radikal hidroksil tersebut dapat menginduksi kerusakan untai DNA dan kerusakan sel. Adanya senyawa alkaloid yang terdapat dalam fraksi *n*-heksana kulit *H. polyrhizus* ini dapat berperan sebagai antioksidan dengan bekerja sebagai scavengers dari radikal hidroksil dan pengkelat ion besi (Moura *et al.*, 2007; Jang *et al.*, 2009).

Senyawa lain yang juga terkandung di dalam fraksi *n*-heksana kulit *H. Polyrhizus* adalah terpenoid. Salah satu senyawa terpenoid yang diduga memberikan aktivitas antioksidan dan terdapat di dalam fraksi adalah karotenoid. Penelitian Murthy 2004 menunjukkan terjadi peningkatan aktivitas enzim katalase tikus sebesar 53.5% setelah pemberian karotenoid dari *Dunaliella salina* sebanyak 250 $\mu\text{g/kgBB}$. Karotenoid diduga mampu mengurangi jumlah hidrogen peroksida dan

anion superoksida sehingga menyebabkan enzim katalase terinaktivasi dan enzim tidak bekerja sebagai antioksidan (Murthy *et al.*, 2006). Terjadinya penurunan jumlah hidrogen peroksida di dalam sel inilah yang dapat menyebabkan peningkatan aktivitas dari enzim katalase.

Senyawa β -karoten yang terkandung dalam fraksi *n*-heksana kulit *H. polyrhizus* juga dapat berperan sebagai antioksidan. Penelitian yang dilakukan oleh Morakinyo 2012 menunjukan bahwa pemberian senyawa β -karoten dapat meningkatkan aktivitas enzim antioksidan yaitu katalase pada tikus yang diinduksi asetaminofen (Morakinyo *et al.*, 2012). Senyawa β -karoten diduga dapat berperan sebagai antioksidan karena senyawa tersebut dapat meningkatkan ekspresi gen dari enzim antioksidan yaitu katalase dan superoksida dismutase (SOD) dengan cara meningkatkan jumlah mRNA (Junior *et al.*, 2012).

Selain karotenoid dan β -karoten, senyawa golongan terpenoid lain yang diduga memberikan aktivitas antioksidan adalah α -tokoferol. Senyawa α -tokoferol berperan sebagai antioksidan dengan cara mencegah reaksi propagasi radikal bebas yang dapat menghasilkan MDA (Malondialdehid). α -tokoferol dapat menyumbangkan atom hidrogen pada radikal peroksil yang berasal dari peroksidasi asam lemak tak jenuh ganda (Bhogade *et al.*, 2008). Penelitian Bhogade 2008 menunjukan bahwa apabila terjadi peningkatan produksi MDA, maka dapat terjadi penurunan aktivitas enzim

katalase karena MDA dapat berikatan saling silang dengan protein pada gugus asam amino dan membentuk molekul silang yang menginaktivasi beberapa ikatan enzim membran (Bhogade *et al.*, 2008).

Aktivitas enzim katalase dari tikus yang diberi fraksi *n*-heksana memang tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan dengan kelompok normal maupun kontrol positif kuersetin dan vitamin E ($p > 0.05$). Namun tetap dapat meningkatkan aktivitas enzim katalase pada tikus yang diberikan stres oksidatif. Kontrol positif yang digunakan dalam penelitian adalah kuersetin. Kuersetin diduga dapat mendetoksifikasi H_2O_2 dan menghambat pembentukan ROS melalui reaksi Fenton untuk menghasilkan radikal hidroksil dengan pengkelat dengan ion logam transisi seperti Cu^{2+} (Kim *et al.*, 2009). Penelitian mengenai aktivitas antioksidan dari kuersetin telah dilakukan oleh Duthie 1997 yang hasilnya menunjukan bahwa pemberian kuersetin pada konsentrasi di atas $10 \mu M$ dapat melindungi dari kerusakan DNA dan oksidasi basa pirimidin pada sel yang diinduksi radikal bebas yaitu hidrogen peroksida (Duthie *et al.*, 1997).

Vitamin E juga digunakan sebagai kontrol positif, perbedaan signifikan terjadi antara kelompok kontrol vitamin E dan semua kelompok tikus ($p < 0.05$). Vitamin E atau α -tokoferol digunakan untuk mencegah kerusakan oksidatif dengan cara menghentikan tahap propagasi dari oksidasi asam lemak tak jenuh ganda (Bharrhan,

2010). Hasil penelitian Chow 1999 menduga bahwa Vitamin E secara langsung dapat mengatur produksi hidrogen peroksida dalam mitokondria, dan menyatakan bahwa kelebihan produksi reaktif oksigen spesies di mitokondria merupakan penyebab utama kerusakan jaringan yang diamati pada tikus dengan defisiensi vitamin E (Chow *et al.*, 1999). Kandungan senyawa alkaloid dan terpenoid di dalam fraksi *n*-heksana kulit *H. polyrhizus* diduga berperan sebagai antioksidan. Peningkatan aktivitas enzim katalase merupakan akibat dari aktivitas antioksidan dari fraksi *n*-heksana kulit *H. polyrhizus*. Penelitian lebih lanjut diperlukan untuk lebih meyakinkan bahwa memang fraksi *n*-heksana kulit *H. polyrhizus* dapat dikembangkan menjadi sediaan farmasi yang berkhasiat sebagai antioksidan.

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa perlakuan berenang 10 menit/hari dan puasa makan selama 5 hari dapat menyebabkan stres oksidatif sehingga terjadi penurunan aktivitas enzim katalase tikus. Fraksi *n*-heksana kulit buah *H. polyrhizus* dengan dosis 10 mg/200gBB dan 40 mg/200gBB dapat meningkatkan aktivitas enzim katalase tikus yang mengalami stres oksidatif.

DAFTAR ACUAN

1. Anatriera, R.A. (2009). Aktivitas spesifik katalase jaringan ginjal tikus yang diinduksi hipoksia hipobarik akut berulang. *Skripsi*. Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
2. Bharrhan, S., Chopra, K., Rishi, P. (2010). Vitamin E supplementation modulates endotoxin-induced liver damage in a rat model. *American Journal of Biomedical Sciences*, 2(1), 51-62.
3. Bhogade, R.B., Suryakar, A.N., Joshi, N.G., Patil, R.Y. (2008). Effect of vitamin E supplementation on oxidative stress in hemodialysis patients. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 23(3), 33-237.
4. Budilaksono, Widy. (2013). Uji aktivitas antioksidan fraksi *n*-heksana kulit *H. polyrhizus* (*Hylocereus lemairei* Britton dan Rose) menggunakan Metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil). *Skripsi*. Pontianak: Program Studi Farmasi Universitas Tanjungpura.
5. Chelikani, P., Fita, I., Loewen, P.C. (2004). Diversity of structures and properties among catalases. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 61(2), 192-208.
6. Chow, C.K., Ibrahim, W., Wei, Z., Chan, A.C. (1999). Vitamin E regulated mitochondrial hydrogen peroxide generation. *Free Radical Biology & Medicine*, (5-6), 580.
7. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (1979). *Farmakope Indonesia*. Edisi III. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
8. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (1986). *Sediaan Galenik*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.

9. Duthie, S.J., Collins, A.R., Duthie, G.G., Dobson, V.L. (1997). Quercetin and myricetin protect against hydrogen peroxide-induced DNA damage (strand breaks and oxidised pyrimidines) in human lymphocytes. *Mutation Research/ Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 393(3), 223-231.
10. Guyton, C.A. (1992). *Buku Teks Fisiologi Kedokteran*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
11. Halliwell, B. (2001). Free Radicals and other reactive species in Disease. In *Encyclopedia of Life Sciences*. Nature Publishing Group. http://www.healtheron.com/Websites/healtheron/images/Oxidative_stress.pdf.
12. Isabelle, M., Bee, L.L., Meng, T.L., Woon, P.K., Dejian, H., Choo, N.O. (2010). Antioxidant activity and profiles of common fruits in Singapore. *Food Chemistry*, 123(1), 77-84.
13. Iwai, K., Nakaya, N., Kawasaki, Y., Matsue, H. (2002). Antidative function of natto, a kind of fermented soybeans: effect on ldl oxidation and lipid metabolism in cholesterol-fed rat. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(12), 3597-3601.
14. Jang, M.H., Kim, H.Y., Kang, K.S. (2009). Hydroxyl radical scavenging of isoquinoline alkaloid isolated from *Coptis chinensis*. *Archives of Pharmacological Research*, 32(3), 341.
15. Jang, Y.Y., Song, J.H., Shin, Y.K. (2000). Protective effect of boldine on oxidative mitochondrial damage in streptozotocin-induced diabetic rats. *Pharmacological Research*, 42(4), 361.
16. Junior, Rossoni, J.V., Araújo, G.R., Pádua, Bda.C., Magalhães, C.L., Chaves, M.M., Pedrosa, M.L., et al. (2012). Annatto extract and β -carotene enhances antioxidant status and regulate gene expression in neutrophils of diabetic rats. *Free Radical Research*, 46(3), 329-38.
17. Kregel, K.C., Zhang, H.J. (2007). An integrated view of oxidative stress in aging: basic mechanisms, functional effects, and pathological considerations. *American Journal Physiology Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 292(1), 18-36.
18. Khopkar. (2002). *Konsep dasar kimia analitik*. Jakarta: Universitas Indonesia Press.
19. Kim, G.N., Jang, H.D. (2009). Protective mechanism of quercetin and rutin using glutathione metabolism on HO-induced oxidative stress in hepG2 cells. *Annals of The New York Academy of Sciences*, 1171, 530-7.
20. Kunwar, A., Priyadarsini, K.I. (2011). Free radicals, oxidative stress and importance of antioxidants in human health. *Journal of Medical and Allied Sciences*, 1(2), 53-60.
21. Malole, M.B.M., Pramono, C.S. (1989). *Penggunaan Hewan-Hewan Percobaan Laboratorium*. Bogor: Departemen Pendidikan dan Kebudayaan, Dirjen Pendidikan Tinggi Pusat Antar Universitas Bioteknologi, Institut Pertanian Bogor.
22. Misra, D.S., Maiti, R., Ghosh, D. (2009). Protection of swimming-induced

- oxidative stress in some vital organs by the treatment of composite extract of *Withania somnifera*, *Ocimum Sanctum* and *Zingiber officinalis* in male rat. *African Journal Traditional*, 6(4), 534 – 543.
23. Morakinyo, A.O., Iranloye, B.O., Oyelowo, OT, Nnaji, J. (2012). Anti-oxidative and hepatoprotective effect of beta-carotene on acetaminophen-induced liver damage in rat. *Biology & Medicine*, 4(3), 134.
 24. Moura, D.J., Richter, M.F., Boeira, JM. (2007). Antioxidant properties of b-carboline alkaloids are related to their antimutagenic and antigenotoxic activities. *Mutagenesis*, 22(4), 293–302.
 25. Murthy, K.N.Chidambara., Vanitha, A., Rajesha, J., M, Mahadeva.Swamy. (2006). In vivo antioxidant activity of carotenoids from *Dunaliella salina* — a green microalga. *Life Sciences*, 76, 1381–1390.
 26. Normahani, M.M, Osman, A., Abdul, H., F, Mohamad.G., Pak, D. (2012). Antibacterial property of *H. polyrhizus* and *Hylocereus undatus* peel extracts. *International Food Research Journal*, 19, 59-66.
 27. Orellana, M., Fuentes, O., Rosenbluth, H., Lara, M., Valdes, F. (1992). Modulation of rats liver peroxisomal and microsomal fatty acids oxidation by starvation. *FEBS*, 310, 193-196.
 28. Raihanah, S.S., Rokiah, M.Y., Mohammad, A.S., Asmah, R. (2012). Hypocholesterolemic Effect of Spray Dried Pitaya Powder Among Normocholesterolemic Subjects in Mempaga, Bentong. *International Conference on Nutrition and Food Science*, 39, 215-221.
 29. Shine, Varghese Jancy Shine, Panikamparambil Gopalakrishnan Latha, Somasekharan Nair Rajam Suja, Gangadharan Indira Anuja.(2014). Ameliorative effect of alkaloid extract of *Cycleapeltata* (Poir.) Hook. f. & Thoms. roots (ACP) on APAP/CCl₄ induced liver toxicity in Wistar rats and *in vitro* free radical scavenging property. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 4(2), 143–151.
 30. Sihombing, M., Rafliizar. (2010). Status gizi dan fungsi hati mencit (halur Cbs-Swiss) dan tikus putih (galur Wistar) di laboratorium hewa percobaan puslitbang biomedis dan farmasi. *Media Litbang Kesehatan*, 10, 12-15.
 31. Singh, R.P., Murthy, K.N.C., Jayaprakasha, G.K. (2002). Studies on Antioxidant Activity of Pomegranate (*Punica granatum*) Peel and Seed Extract Using in vitro Model. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 81-86.
 32. Suarsana, W.T., Suprayogi, A. (2013). Respon Stres Oksidatif dan Pemberian Isoflavon terhadap Aktivitas Enzim Superoksida Dismutase dan Peroksidasi Lipid pada Hati Tikus. *JITV*, 18(2), 146-152.
 33. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MTD, Mazur M, Telser J. (2007). Review: Free radicals and antioxidants in normal

- physiological functions and human disease. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 39(1), 44-84.
34. Winarsi H. (2007). Antioksidan alami dan radikal bebas. Yogyakarta: Penerbit Kanisius.
35. Wiset, L., N, Poomsa-ad., V, Srilaong. (2012). Comparisons of antioxidant activity and bioactive compounds of dragon fruit peel from various drying methods. *World Academy of Science, Enginnering and Technology*, 70, 995-998.
36. Wresdiyati, T., Makita, T. (1995). Remarkable increase of peroxisomes in the renal tubule cells of Japanese monkeys under fasting stress. *Pathophysiol*, 2, 177-182.
37. Wu, L., Hsiu, W.H., Yun, C.C., Chih, C.C., Yu, I.L., Ja-an, A.H. (2005). Antioxidant and antiproliferative activities of red pittaya. *Journal Food Chemistry*, 95(2), 319-327.
38. Zainuri, Masagus., Septelia, I.W. (2012). Aktivitas spesifik Manganese Superoxide Dismutase (MnSOD) dan katalase pada hati tikus yang diinduksi hipoksia sistemik: hubungannya dengan kerusakan oksidatif. *Media Litbang Kesehatan*, 22(2), 87-92.